

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Alexandra Ptáková

Potenciální fyziologický význam termálního preconditioningu

Potential physiological significance of thermal preconditioning

Bakalářská práce

Školitel: doc. RNDr. Jiří Novotný, DSc.

Praha, 2020

Poděkování:

Ráda bych poděkovala doc. RNDr. Jiřímu Novotnému, Dsc., vedoucímu své bakalářské práce, za ochotu, připomínky a čas, který mi věnoval při jejím vypracovávání.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze 3.6. 2020

.....

Alexandra Ptáková

Abstrakt

Krátkodobé vystavení buněk nebo celého těla mírné hypertermii, známé jako termální preconditioning, je experimentální metoda využívaná k navození cytoprotekce před následnými, jinak škodlivými či dokonce letálními, stresovými podmínkami. Termální preconditioning je poměrně snadno proveditelný a mohl by se využívat při předcházení vzniku různých zdravotních problémů. Cílem této práce je shrnout dosavadní poznatky o účincích termálního preconditioningu na buňky i na celý organismus. Jsou zde popsány možnosti, jak tuto metodu efektivně provádět, společně s nastíněním molekulárního mechanismu, kterým se podílí na vyvolání cytoprotekce. Nakonec jsou zmíněny některé oblasti, kde by se termální preconditioning mohl využívat.

Klíčová slova: termální preconditioning, hypertermie, cytoprotekce, HSP, ischemicko-reperfúzní poškození

Abstract

Short-term exposure of cells or whole body to mild hyperthermia, known as thermal preconditioning, is an experimental method used to provide cytoprotection against subsequent, otherwise harmful or even lethal, stress conditions. Thermal preconditioning is relatively easily feasible and could be used to prevent various health problems. The aim of this thesis is to summarize current knowledge about the impact of thermal preconditioning on cells and the whole organism. The possibilities of how to perform this method effectively are described here, together with the molecular mechanisms involved in the induction of cytoprotection. Some areas where thermal preconditioning could be used are also mentioned.

Key words: thermal preconditioning, hyperthermia, cytoprotection, HSP, ischemia-reperfusion injury

Seznam zkratek

Akt (PKB)	proteinkináza B
Apaf-1	apoptotic protease activating factor 1
ATP	adenosintrifosfát
Bad	Bcl-2-associated agonist of cell death
Bax	Bcl-2-associated X protein
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
COX-2	cyklooxygenáza 2
eNOS	endotelová syntáza oxidu dusnatého
ERK	kináza regulovaná extracelulárním signálem
FasL	Fas ligand
FoxO1	Forkhead box O1
FoxO3a	Forkhead box O3a
GPCR	receptor spřažený s G-proteiny
GPX	glutathion peroxidáza
GR	glutathion reduktáza
GSH	glutathion
GSK3 β	glykogensyntáza kináza 3 β
HIF-1	hypoxia-inducible factor 1
HO-1 (HSP32)	hem oxygenáza 1
HSE	heat shock element
HSF1	heat shock factor 1
HSP	heat shock protein
HSR	heat shock response
I/R poškození	ischemicko-reperfúzní poškození
ICAM-1	intracellular adhesion molecule 1
IL-1 β	interleukin 1 β
IL-6	interleukin 6
iNOS	inducibilní syntáza oxidu dusnatého
JNK	c-Jun N-terminální kináza
MAPK	mitogenem aktivovaná proteinkináza
MAP2K	MAP kináza kináza
MAP3K	MAP kináza kináza kináza

MAPKAPK-2	MAPK-activated protein kinase 2
K _{ATP}	ATP řízený draslíkový kanál
MPTP	mitochondriální pór přechodné permeability
mTORC1	mammalian target of rapamycin complex 1
mTORC2	mammalian target of rapamycin complex 2
MnSOD	manganová superoxid dismutáza
NFκB	nukleární faktor κB
nNOS	neuronální syntáza oxidu dusnatého
p38	kináza p38
PDK1	fosfatidylinositol-dependentní kináza 1
PDX	patient derived xenografts
PH doména	pleckstrin homology domain
PI3-K	fosfatidylinositol-3-kináza
PKC	proteinkináza C
PTP	progresivní termální preconditioning
RNS	reaktivní formy dusíku
ROS	reaktivní formy kyslíku
RTK	tyrozinkinázový receptor
TNFα	faktor nádorové nekrózy α
TP	termální preconditioning
TRAIL	tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand
VCAM-1	vascular cell adhesion molecule 1
WBH	whole body hyperthermia

Obsah

ABSTRAKT.....	3
ABSTRACT.....	3
SEZNAM ZKRATEK.....	4
1 ÚVOD.....	7
2 TERMÁLNÍ PRECONDITIONING.....	8
2.1 MOŽNOSTI PROVÁDĚNÍ TP	8
3 MECHANISMUS PROTEKCE	11
3.1 SIGNÁLNÍ DRÁHY.....	11
3.1.1 PI3-K/Akt.....	11
3.1.2 MAPK.....	14
3.2 MEDIÁTORY PROTEKCE.....	14
3.2.1 HSP	14
3.2.1 Antioxidační enzymy	17
3.2.2 NOS	17
3.2.3 COX-2.....	18
3.3 VLIV TP NA HLADINU CYTOKINŮ	18
4 POTENCIÁLNÍ VYUŽITÍ	20
4.1 OCHRANA PŘED I/R POŠKOZENÍM	20
4.1.1 I/R poškození	20
4.1.2 Vliv TP.....	22
4.2 TRANSPLANTACE.....	22
4.3 VLIV NA MUSKULOSKELETÁLNÍ APARÁT	23
4.4 VLIV NA HOJENÍ RAN	23
4.5 OCHRANA PŘED TERMÁLNÍM POŠKOZENÍM.....	24
4.6 OCHRANA PŘED CYTOTOXICITOU LÉČIV	24
4.7 NEURODEGENERATIVNÍ PORUCHY	24
4.8 PŘÍKLADY KLINICKÉHO VYUŽITÍ.....	25
5 ZÁVĚR.....	26
6 SEZNAM LITERATURY	27

1 Úvod

Termální preconditioning (TP) je experimentální metoda využívající účinky krátkodobého a mírného zvýšení teploty pro navození odolnosti buněk před následným působením různých stresových podnětů. Ty mohou být mimo jiné součástí některých lékařských zákroků, např. těch, kdy je dočasně pozastaven přívod krve do tkáně. Ta je poté vystavena ischemii a následné reperfuzi, což způsobuje tzv. ischemicko-reperfuzní poškození (I/R poškození). TP by se ale mohl využívat i ve spoustě jiných oblastí. Mechanismus, kterým je protekce tkání navozena, zatím není zcela objasněn, navíc může být specifický pro jednotlivé typy tkání. Dochází ke spuštění velkého množství vzájemně propojených signálních drah, jejichž výsledkem je aktivace různých efektorových molekul zprostředkujících ochranu. Také dochází ke změně genové exprese a syntéze nových proteinů. V principu se jedná o poměrně dostupnou a snadno proveditelnou metodu, která by mohla být využívána pro léčbu nebo předcházení některých zdravotních problémů. Nicméně TP je zatím hlavně předmětem výzkumu a pro jeho převedení do klinické praxe je nutné detailněji pochopit molekulární mechanismus, který stojí za navozením protekce.

Cílem této práce je shrnout dosavadní poznatky o vlivu TP na organismus a popsat možnosti jeho využití. První část je zaměřena na definici metody a úpravy jejího provádění, aby byla co nejvíce efektivní. Další část se soustředí na molekulární mechanismy cytoprotekce, a nakonec jsou vyjmenovány některé oblasti, kde by TP mohl najít své uplatnění se zvláštním zaměřením na ochranu před I/R poškozením v různých částech těla.

2 Termální preconditioning

Jde o metodu, při které se krátkodobě zvyšuje teplota celého těla nebo jeho části. Pokud není zvýšena natolik, aby způsobila nevratná poškození, může vést ke spuštění různých fyziologických procesů. Ty zajistí, aby se buňky staly odolnějšími vůči dalším stresovým podnětům.

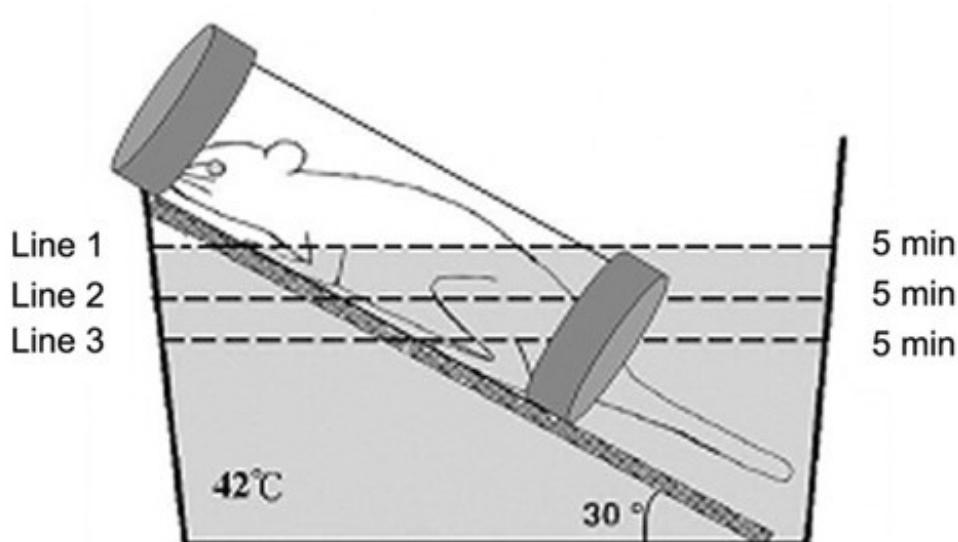
2.1 Možnosti provádění TP

Při TP se zvyšuje teplota celého těla (WBH, z angl. whole body hyperthermia), popř. lze cílit jen na konkrétní tkáň. Dosažená teplota se zpravidla pohybuje od 38°C do 43°C a doba během níž je zvýšena, může trvat v řádu několika málo minut až hodin. Závisí to na druhu modelového organismu a také části těla. Je potřeba mít v patnosti, že určitá teplota navozující protekci v jedné tkáni, dokáže vyvolat poškození jiné tkáně. Právě TP aplikovaný na celé tělo (42°C po dobu 15-20 min), jeden z nejčastěji používaných modelů TP, je ale často doprovázen také vedlejšími účinky. Mezi ně patří např. zvýšení tepové frekvence i krevního tlaku (Kataoka and Yoshida, 2005), oxidativní stres, stres endoplasmatického retikula (Li et al., 2012) a zvýšení migrace leukocytů z kapilár (Légaré et al., 2007). Obecně má působení vyšší teploty nepříznivý vliv na nervový a kardiovaskulární systém. Neustálým předmětem zájmu je tedy stanovení ideálních podmínek, při kterých bude TP účinný, ale zároveň nevyvolá žádné, popř. vyvolá co nejmenší vedlejší účinky, aby tato metoda mohla být využita v klinické praxi.

Jednou ze studií, kde se vědci zabývali úpravou provedení TP, je např. studie McCormicka z roku 2003, která spočívala především v testování velmi mírného zvyšování teploty těla myši vždy jen o 1°C. Teplota byla poté udržena následujících 15 min a celý proces byl opakován po dobu 5 dní, přičemž vystavení dalšímu stresovému stimulu proběhlo až po 5. cyklu TP. Takto provedený TP účinně zmírnil následky ischemie a reperfuze, kterým byl poté orgán, konkrétně plíce, vystaven. Zároveň nebyly pozorovány žádné vedlejší účinky.

Ukázalo se, že využití více cyklů TP za sebou vede k prodloužení protektivního účinku. Např. při vystavení celého těla myši dvěma sériím hypertermie, oddělených od sebe 48 hodinami, byla pozorována navozená protekce myokardu proti I/R poškození, která přetrvávala ještě 60 hodin poté (Hoshida et al., 2002). U jednoho kola TP jinak protektivní účinek vymizel zpravidla do 24 hodin. Bylo také zjištěno, že více sérií TP zajistí syntézu většího množství HSP (proteiny teplotního šoku) než jednokolový TP (Kimoto et al., 2000).

Huang a kol. přišli v roce 2009 s metodou progresivního TP (PTP). PTP na rozdíl od TP, kdy dojde k rychlému vystavení celého těla vyšší teplotě najednou, byl prováděn postupným ponořováním do několika úrovní vodní lázně ve třech krocích. V každém kroku byla část těla v lázni 5 min a až v tom posledním bylo tělo ponořeno celé (obrázek 1). Tento účinný způsob provedení zajistil, že nedošlo ke zvýšení krevního tlaku ani tepové frekvence.



Obrázek 1: Schéma umístění těla potkana při provádění PTP. Převzato z: (Huang et al., 2009).

Jiná studie ještě zkoumala účinky PTP a repetitivního PTP ve srovnání s běžným TP. Při repetitivním PTP je celý výše popsany postup několikrát zopakován. Prokázalo se totiž, že PTP sice není spojen s tolika vedlejšími účinky jako TP, nicméně není ani rovnocenně efektivní. Naopak vlivy stejně šetrného repetitivního PTP už ale byly podobné těm, které vyvolal TP (Li et al., 2012).

Mezi další alternativy provádění TP se řadí lokální hypertermie, cílená jen na určitý orgán nebo část orgánu, kdy celé tělo není zbytečně vystaveno vyšší teplotě. Slibné výsledky přinesly např. studie s invazivní umělou plicní ventilací teplým vzduchem (Luh et al., 2007) nebo lokálním zahříváním myokardu (Gowda et al., 1998; Gong et al., 2008) a končetin (Healy et al., 2007) prováděné na různých zvířecích modelech.

Aby byla tato metoda dostatečně efektivní, je také nutné určit přesný časový interval mezi aplikací TP a vystavením dalšímu stresovému podnětu. Ve velkém počtu studií se jako ideální ukázalo 18-24 hodin (Currie et al., 1993; Stokes et al., 1996; Javadpour et al., 1998; Redaelli et al., 2002). Jinde bylo možné účinky TP pozorovat už po 6 hodinách (Gerazova-Efremova et al., 2019). K protekci buněk ale zpravidla nedocházelo hned (v počátečních minutách) po vystavení hypertermii, což naznačuje, že pro její navození je patrně důležitá i syntéza nových proteinů.

3 Mechanismus protekce

Přesný molekulární mechanismus, kterým TP zajišťuje cytoprotekci, zatím není zcela objasněn. Navíc může být specifický pro jednotlivé typy tkání. Z dosavadních poznatků je ale možné popsat některé obecné děje probíhající v organismu v důsledku působení mírně zvýšené teploty. V tkáních jsou vlivem hypertermie produkovány některé látky, jako např. ROS (reaktivní formy kyslíku) (Arnaud et al., 2002), NO (oxid dusnatý) (Arnaud et al., 2001), cytokiny (Yamashita et al., 2000) nebo katecholaminy (Joyeux et al., 1998a), které spouští různé pochody zajišťující odolnost buněk vůči dalšímu poškození. Velký význam ve zprostředkování ochrany mají i nově nasyntetizované proteiny.

3.1 Signální dráhy

Protekce navozená TP spočívá v aktivaci, popř. inhibici určitých kroků signalizačních kaskád některých kináz, jde především o PI3-K (fosfatidylinositol-3-kináza), Akt (proteinkináza B), MAP kinázy ERK, JNK a p38 a PKC (proteinkináza C). Tyto kinázy zajišťují fosforylaci dalších efektorových molekul, které poté umožňují úpravu genové exprese a ovlivnění různých procesů, např. apoptózy.

3.1.1 PI3-K/Akt

Velké množství buněčných pochodů je spojeno se signální dráhou kináz PI3-K/Akt. Ta zprostředkovává např. růst, proliferaci, inhibici apoptózy a další procesy zajišťující přežití buněk. Kináza Akt je downstreamový efektor PI3-K a v savčích buňkách se vyskytuje ve třech izoformách. Je to serin/threoninová kináza, která hraje důležitou roli v přenosu signálu a k její aktivaci může dojít působením tepla (Maroni et al., 2003; Cao et al., 2007). Vazbou ligandu na RTK (tyrozinkinázový receptor) nebo na GPCR (receptor spřažený s G-proteiny) je následně aktivována PI3-K. Působením PI3-K vzniká fosfatidylinositol-3,4,5-trisfosfát (PIP₃), připojený k vnitřní straně cytoplazmatické membrány. Na PIP₃ se může pomocí svých PH domén navázat PDK1 (fosfatidylinositol-dependentní kináza 1) a Akt, čímž je zajištěno jejich přiblížení. Akt je poté fosforylována kinázami mTORC2 (z angl. mammalian target of rapamycin complex 2) a PDK1, to vede k její disociaci od plazmatické membrány a její aktivaci (obrázek 2).

Takto aktivovaná Akt může zajistit inhibici apoptózy. Především fosforylací proapoptotických faktorů, jakými jsou např. GSK3β (glykogensyntáza kináza 3β) (Maroni et al., 2003; Cao et al., 2007), Bad a FoxO1/FoxO3a (Thompson et al., 2016), což negativně

reguluje jejich aktivitu, a tím je podpořeno přežití buňky. Prokázáno to bylo např. na modelu myších mozkových buněk, kdy byl před samotným TP použit inhibitor PI3-K (LY294002). V takovém případě totiž nedošlo k zabránění apoptózy, na rozdíl od situace, kdy inhibitor použit nebyl. TP zde vyvolal aktivaci Akt, která prostřednictvím fosforylace inaktivovala GSK3 β (Cao et al., 2007).

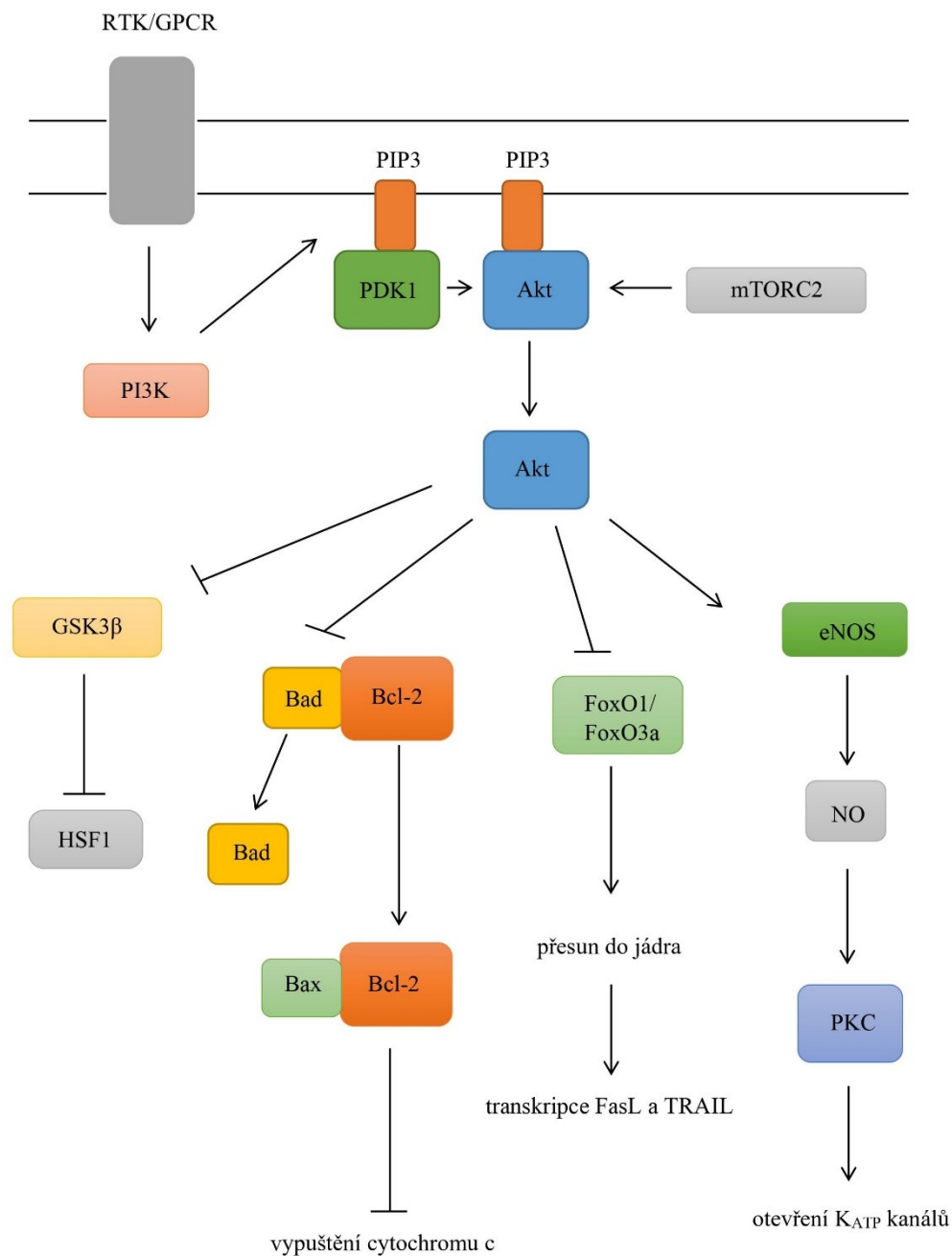
Kináza Akt také během TP fosforyluje protein Bad (z angl. Bcl-2 associated agonist of cell death) (Thompson et al., 2016). Ve fosforylované formě Bad nemůže interagovat s antiapoptotickým proteinem Bcl-2 (z angl. B-cell lymphoma 2), čímž tak nenaruší jeho funkci, kterou je za normálních podmínek vyvazování proteinu Bax (z angl. Bcl-2-associated X protein) (Zong et al., 2001). Proapoptotický protein Bax se podílí na tvorbě póru v membráně mitochondrií, což vede k vypuštění cytochromu c z mezimembránového prostoru a následné apoptóze (Li et al., 1997).

Fosforylací transkripčních faktorů FoxO1 a FoxO3a (z angl. forkhead box O1, O3a) je zabráněno jejich přesunu do jádra, kde jinak napomáhají transkripci proapoptotických faktorů, jako je FasL (Fas ligand) a TRAIL (z angl. tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand) (Zhang et al., 2011).

TP má vliv i na aktivaci a zvýšení koncentrace PKC (Arnaud et al., 2004; Ilievska et al., 2018). Jedním ze zprostředkovatelů aktivace PKC je NO (Balafanova et al., 2002), který je syntetizován pomocí eNOS (endotelová NO-syntáza). eNOS může být fosforylována, a tím aktivována prostřednictvím PI3-K/Akt signální kaskády (Li et al., 2012). PKC byla zkoumána např. v souvislosti s ochranou myokardu myší před I/R poškozením (Joyeux et al., 1997), kde se uplatňuje zejména izoforma ϵ (Arnaud et al., 2004). Aktivovaná PKC ϵ se podílí na otvírání K_{ATP} kanálů (ATP řízené draslíkové kanály) (Ito et al., 2001). Bylo prokázáno, že právě otvírání těchto kanálů hraje roli v kardioprotekci (Hoag et al., 1997; Joyeux et al., 1998b). Nicméně přesná úloha K_{ATP} kanálů při navození ochrany pomocí TP není dosud zcela objasněna.

Spuštění signální kaskády PI3-K/Akt může mít také vliv na syntézu a fosforylaci HSP. V důsledku aktivace Akt byla pozorována zvýšená exprese především HSP70, HSP90 (Zhou et al., 2004) a HSP40 (Magrané et al., 2005). Jednou z možností, jak se aktivace Akt může podílet na ovlivnění syntézy HSP, je skrze inaktivaci GSK3 β (Bijur and Jope, 2000). GSK3 β totiž patří mezi možné inhibitory HSF1 (z angl. heat shock factor 1), který je v aktivní

formě potřebný pro syntézu HSP (Chu et al., 1996). Jiné studie ale prokázaly, že PI3-K/Akt signální dráha, spuštěná během TP, nemusí mít na expresi HSP vliv (Cao et al., 2007).



Obrázek 2: Schéma drah spojených s kinázou Akt (↓– aktivace, ⊥– inhibice).

3.1.2 MAPK

Další signální kaskáda, která může být aktivována během TP, je kaskáda serin/threoninových kináz z rodiny MAPK (mitogenem aktivované proteinkinázy). Účastní se mnoha buněčných pochodů, jako je např. diferenciace, proliferace, spuštění imunitní odpovědi nebo apoptóza. Signál je obecně v rámci kaskády přenášen v několika úrovních pomocí fosforylace. MAP3K může být fosforylována např. GTPázami Ras a Rac1, které je aktivovány působením mírně zvýšené teploty (Han et al., 2002), popř. je fosforylována jinou protein kinázou a aktivuje MAP2K. Ta následně aktivuje MAPK, která dokáže dále fosforylovat velkou řadu cílových molekul včetně transkripčních faktorů a dalších kináz. Savčí MAP kinázy je možné rozdělit do tří rodin – ERK (kinázy regulované extracelulárním signálem), JNK (c-Jun N-terminální kinázy) a kinázy p38.

Obecně je aktivace ERK spojena se zabráněním apoptózy, naopak aktivace kináz JNK a p38 má spíše proapoptotické účinky (Xia et al., 1995). Antiapoptotické účinky ERK, stejně jako u Akt, spočívají např. ve fosforylaci proapoptotických proteinů GSK3 β a Bad (Scheid et al., 1999; Ding et al., 2005). Kináza p38 může skrze MAPKAPK-2 (z angl. MAPK-activated protein kinase 2) fosforylovat, a tím aktivovat HSP27 (Guay et al., 1997). HSP27 se jeví jako možný mediátor protekce např. před I/R poškozením (Martin et al., 1997).

Všechny kinázy jsou aktivovány působením mírně zvýšené teploty (Maroni et al., 2000; Han et al., 2002), nicméně jejich přesná úloha v cytoprotekci související s TP a případné interakce mezi jednotlivými úrovněmi jejich signálních drah navzájem nejsou plně vyjasněny.

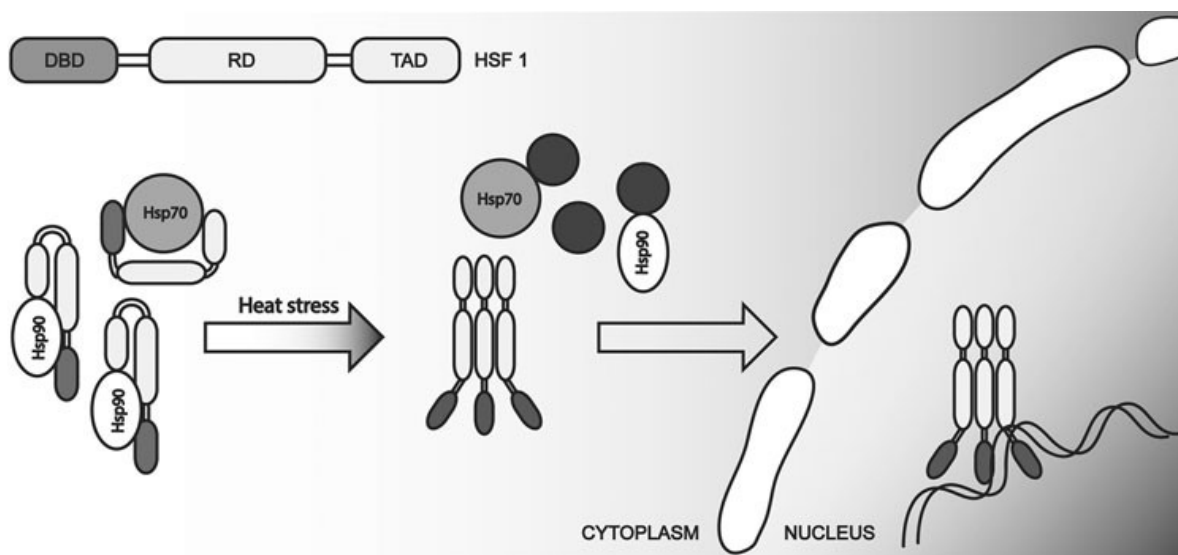
3.2 Mediátory protekce

3.2.1 HSP

Během intenzivní hypertermie dochází k denaturaci proteinů a k pozastavení syntézy většiny z nich. Výjimkou jsou např. proteiny teplotního šoku (HSP), jejichž množství stoupá v reakci na denaturované proteiny, kdy se jako chaperony podílejí na jejich opravě a napomáhají buňce vyrovnat se s působením stresových podmínek. Tato odpověď buňky je označovaná jako HSR (z angl. heat shock response). Při mírném zvýšení teploty během TP, kdy proteiny nejsou ireverzibilně denaturovány a nejsou narušeny ani jiné pochody v buňce, také

dochází k syntéze HSP, ačkoliv ne v tak vysoké míře jako při intenzivnější hypertermii (Park et al., 2005).

Syntéza HSP je regulována na úrovni transkripce (obrázek 3). Vlivem stresu působícího na buňku dojde k aktivaci HSF (z angl. heat shock factor). Existuje několik typů HSF, přičemž HSF1 zde hraje klíčovou roli. Jde o transkripční faktor, který se při normálních podmínkách vyskytuje v komplexu s cytosolickými HSP (HSP70, HSP90). V takovém případě je v monomerní formě a je inaktivní (Abravaya et al., 1992; Zou et al., 1998). Při narůstajícím množství denaturovaných proteinů, vlivem zvýšené teploty, HSP70 a HSP90 disociují od HSF1, který tak může trimerizovat. Aby mohl být HSF1 aktivován, musí dojít ještě k jeho posttranslačním modifikacím. Možný způsob aktivace HSF1 je fosforylace na serinu 326 savčí kinázou mTORC1 (z angl. mammalian target of rapamycin complex 1) (Chou et al., 2012), kterou může aktivovat výše zmíněná kináza Akt. Kináza Akt může také zprostředkovat aktivaci HSF1 prostřednictvím inhibice GSK3 β , což je jeden z inhibitorů HSF1 (Bijur and Jope, 2000). Aktivovaný HSF1 se poté v jádře váže na HSE (z angl. heat shock element), to je úsek na DNA umístěný v promotorové oblasti genu pro HSP. Po navázání HSF1 na HSE dojde k iniciaci translace. Syntézou dostatečného množství HSP je zajištěna opětovná inaktivace HSF1, který se znovu naváže na tyto nově vzniklé proteiny (Velichko et al., 2013).



Obrázek 3: Znázornění aktivace HSF1. Převzato z: (Velichko et al., 2013).

Další možnost regulace transkripce je pomocí HIF-1 (z angl. hypoxia-inducible factor 1), což je transkripční faktor, který může podpořit transkripci HSP (Huang et al., 2009). Zvýšená exprese HIF-1 v důsledku TP byla pozorována např. v myších astrocytech (Du et al., 2010).

HSP se mohou dělit do několika skupin. Např. na základě jejich molekulárních hmotností se dělí na proteiny s hmotností menší než 40 kDa (HSP20, HSP27, HSP32), HSP60, HSP70, HSP90 a HSP100 (Velichko et al., 2013). V souvislosti s TP byly zkoumány především proteiny HSP72, HSP90 a HSP27. V některých tkáních byla pozorována i zvýšená koncentrace HSP32 (HO-1, hem oxygenáza-1) (Ewing et al., 1994; Redaelli et al., 2002). To ale nevylučuje zapojení i jiných proteinů z této rodiny.

Mimo to, že se HSP začnou syntetizovat v reakci na stresové podněty, vyskytují se v buňce v nižší hladině i za normálních podmínek, kdy slouží jako chaperony a podílejí se na udržování proteinové homeostázy. Jednotlivé skupiny mají lehce odlišné biologické funkce, nicméně pro všechny je společná právě jejich chaperonová aktivita. Ta spočívá v navázání HSP na odkryté hydrofobní části nesbalených, popř. špatně sbalených proteinů, čímž zabrání možným interakcím s jinými molekulami. Mezi další účinky HSP se řadí také inhibice apoptózy. HSP70 a HSP90 mohou interagovat s Apaf-1 (z angl. apoptotic protease activating factor 1) (Beere et al., 2000; Pandey et al., 2000) a HSP27 má negativní vliv na uvolnění cytochromu c z mitochondrií (Paul et al., 2002), takže se snižuje pravděpodobnost formování apoptozomu. HSP působí také protizánětlivě, např. HSP70 inhibuje NF κ B (nukleární faktor κ B), transkripční faktor, který se jinak podílí na expresi cytokinů (Ran et al., 2004).

Zejména v dřívějších studiích zabývajících se TP byla navozená protekce připisována hlavně HSP. Tyto proteiny ale nejsou jediným klíčovým zprostředkovatelem a celý mechanismus je mnohem komplexnější. Naznačují to některé výzkumy, ve kterých byly blokovány jiné potenciální mediátory protekce, zatímco syntéza HSP nijak ovlivněna nebyla a k navození ochrany přesto nedošlo. Příkladem může být studie zabývající se zablokováním α_1 adrenergických receptorů (Joyeux et al., 1998a) a inaktivací PKC (Joyeux et al., 1997) během zkoumání možného navození kardioprotekce před I/R poškozením u myší. V jiné studii byl sledován vliv přidání inhibitoru kinázy PI3-K na schopnost TP zajistit ochranu myších nervových buněk před apoptózou, kterou může vyvolat nízká hladina K^+ (Cao et al., 2007).

Naopak v některých oblastech bylo prokázáno, že exogenní dodání HSP vyvolalo stejný účinek jako TP. Např. Kelty a kol. v roce 2002 ukázali, že právě samotné dodání HSP zajistí, stejně jako TP, zachování normální funkce synapsí myších neuronů při následném působení vyšší teploty, která se mimo jiné podílí i na ovlivnění synaptického přenosu. V jiném případě mělo zase zabránění syntézy samotných HSP pomocí antisense oligonukleotidů negativní vliv při navození protekce během TP (Ito et al., 1999).

Možný mechanismus, jímž se HSP podílejí na ochraně buněk, může souviset s jejich chaperonovou aktivitou, díky které by mohly napomáhat při sbalování jiných nově syntetizovaných proteinů zprostředkujících cytoprotekci. Tomu napovídají některé studie, kde byly protektivní účinky pozorovány až několik hodin po aplikaci TP. Např. v roce 1998 Gill a kol. prováděli pokus na kultuře lidských endoteliálních buněk pupečnickové žíly a prokázali, že ačkoliv vyšší hladina HSP72 byla naměřena už po 2 hodinách (tehdy proběhlo první měření), k protekci buněk před oxidativním poškozením došlo až po 20 hodinách. V obou časech byla hladina HSP přibližně stejná. Přesný význam HSP při protekci navozené TP tedy není zcela jasný a vyžaduje další výzkumy.

3.2.1 Antioxidační enzymy

ROS mohou mít protektivní účinky, pokud se v buňce vyskytují v malém množství. Dokonce i vlivem hypertermie dochází v tkáních k jejich produkci. Bylo prokázáno, že jsou důležité např. pro navození kardioprotekce proti I/R poškození (Arnaud et al., 2002). Nicméně pokud je hladina ROS, popř. RNS (reaktivní formy dusíku) v buňce příliš vysoká, může být jejich působením narušena struktura a funkce NK, proteinů a lipidů. S těmito reaktivními formami bojuje antioxidační systém buňky.

V některých studiích bylo pozorováno, že se TP podílí na aktivaci antioxidačních enzymů. Působením mírné hypertermie na myší kardiomyocyty došlo např. ke zvýšení koncentrace MnSOD (Mn superoxid dismutáza), což je enzym katalyzující přeměnu škodlivého superoxidového radikálu $O_2^{\cdot-}$ na O_2 a H_2O_2 (Yamashita et al., 1997; Wang et al., 2000). Dále byla v různých tkáních pozorována také vyšší hladina katalázy, která přeměňuje vzniklý H_2O_2 na O_2 a H_2O (Joyeux et al., 1997; Thomas et al., 2003). TP se podílel i na aktivaci antioxidačních enzymů GR (glutathion reduktáza) a GPX (glutathion peroxidáza) (Gerazova-Efremova et al., 2019). Vlivem hypertermie byla zvýšena i koncentrace neenzymatického antioxidantu GSH (glutathion) (Pan et al., 2012). Je tedy jasné, že TP může spolehlivě působit proti oxidačnímu stresu, což dokazují i snížené hladiny ROS a NO, které byly naměřené v několika studiích (Li et al., 2012; Pan et al., 2012).

3.2.2 NOS

NO je malá signální molekula, která má za normálních podmínek protizánětlivé účinky. Pokud se ale v buňce vyskytuje ve větší míře, může se podílet i na spuštění zánětlivých reakcí. Produkci NO zajišťují enzymy NOS (syntáza oxidu dusnatého). Existují 3 typy této syntázy,

eNOS (endoteliální), nNOS (neuronální) a iNOS (inducibilní). Kromě role v imunitních procesech se NO podílí např. i na vasodilataci a regulaci apoptózy (Sharma et al., 2007). Produkce NO může být důležitá třeba z hlediska kardioprotekce, což patrně souvisí s dříve zmíněnou schopností NO aktivovat PKC (Balafanova et al., 2002).

V některých studiích byla v důsledku TP pozorována aktivace eNOS a iNOS vedoucí ke zvýšení hladiny NO s následným navozením ochrany, to konkrétně v myších kardiomyocytech a v buňkách krční a stehenní tepny (Arnaud et al., 2001; Li et al., 2012). V jiném případě ale protektivní vliv TP spočíval právě v inhibici iNOS. Snížení koncentrace NO poté vedlo k obnovení běžné funkce epitelu v plicních sklípcích myši, která byla jinak v důsledku hemoragického šoku plic negativně ovlivněna (Pittet et al., 2002).

3.2.3 COX-2

Dalším potenciálním mediátorem protekce může být také COX-2 (cyklooxygenáza 2), enzym důležitý při syntéze prostaglandinů. Zvýšené množství COX-2 bylo pozorováno po 24 hodinách od aplikace TP na myši myokard. Zároveň přidáním inhibitoru této cyklooxygenázy (NS-398) před vystavením tkáně ischemii byl narušen protektivní účinek TP a nedošlo ke zmenšení rozsahu infarktového ložiska (Arnaud et al., 2003). V pozdějších studiích byla naopak koncentrace COX-2 snížena po 24 hodinách od prvního kola TP a ke zvýšení její hladiny došlo až při opakovaném provedení TP po 48 hodinách (Ilievska et al., 2018). Přesná role této cyklooxygenázy v cytoprotekci také není plně objasněna.

3.3 Vliv TP na hladinu cytokinů

V souvislosti s TP dochází i ke změně koncentrací některých cytokinů, ty by mohly být dalším potenciálním mediátorem zajišťujícím ochranu buněk. Jejich význam byl zkoumán s ohledem na možné vyvolání kardioprotekce, která byla jinak narušena v případě podání protilátek, konkrétně proti IL-1 β (interleukin 1 β) a TNF α (faktor nádorové nekrózy α). Přidáním těchto protilátek došlo také k inhibici MnSOD. Význam zvýšené hladiny cytokinů TNF α a IL-1 β může tedy spočívat právě v aktivaci antioxidantních enzymů, nejspíš prostřednictvím uvolnění ROS (Yamashita et al., 2000).

Zmíněné cytokiny TNF α , IL-1 β společně s IL-6 (interleukin 6) ale patří mezi prozánětlivé cytokiny. Jejich hladina stoupá v počátečních fázích zánětu a podílejí se na jeho zesílení.

Podporují aktivaci endotelových buněk, na kterých se poté exprimují adhezní molekuly, čímž mohou zajistit infiltraci leukocytů do tkání. Jako protektivní se vlivem TPjevilo i snížení hladiny těchto cytokinů. Např. při ochraně prasečích plic před I/R poškozením, kdy po aplikaci TP byly zaznamenány nižší koncentrace IL1- β , IL-6 a TNF α (Luh et al., 2007).

TP se podílí také na inhibici TNF α -zprostředkované upregulace VCAM-1 (z angl. vascular cell adhesion molecule 1) a E-selektinu v endoteliálních buňkách. E-selektin a VCAM-1 patří mezi adhezní molekuly, které jsou produkovány díky cytokinům a hrají roli při infiltraci leukocytů. Během TP byla v kultuře lidských buněk arteriálního endotelu zablokována aktivace NF κ B, transkripčního faktoru zajišťujícího expresi cytokinů. Došlo k tomu pravděpodobně pomocí HSP (Nakabe et al., 2007). V důsledku TP byla pozorována i snížená exprese ICAM-1 (z angl. intercellular adhesion molecule 1), např. v buňkách myších ledvin a v buňkách krční a stehenní tepny (Stokes et al., 1996; Li et al., 2012). To poukazuje na protizánětlivé účinky TP.

4 Potenciální využití

V předchozí kapitole byly shrnuty alespoň některé molekulární mechanismy, kterými se TP podílí na navození cytoprotekce. Samotná metoda je stále pouze předmětem výzkumu a zatím není využívána v klinické praxi. Vlivy TP jsou zkoumány v mnoha oblastech, z toho velké množství studií je zaměřeno na jeho účinky v rámci ochrany tkání před I/R poškozením. Vzhledem k povaze této metody, která musí být aplikována před očekávaným vystavením stresovému podnětu, by TP mohl sloužit při přípravě tkání u různých plánovaných lékařských zákroků, např. při transplantacích nebo jiných operacích vyžadujících třeba pozastavení přívodu krve.

4.1 Ochrana před I/R poškozením

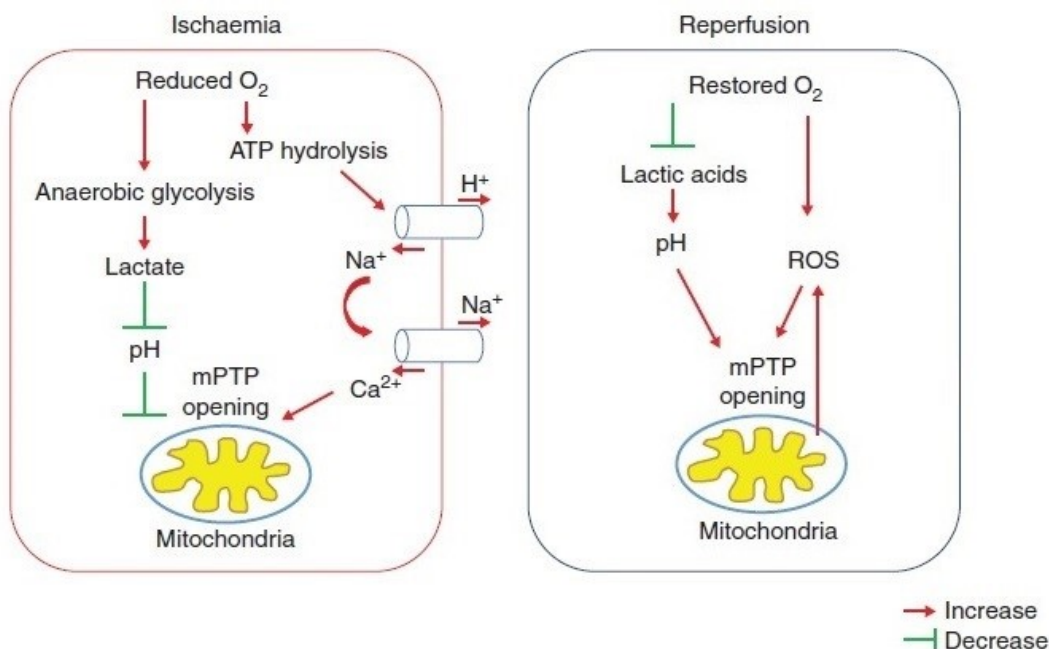
Pokud je tkáň vystavena ischemii, následná reperfuze je důležitá pro zachování její funkce. Oba tyto procesy spouští řadu změn na buněčné úrovni, a ty mají za následek tzv. I/R poškození. Během ischemie je omezeno prokrvení tkáně vedoucí k nedostatku živin a kyslíku, a tím i k nedostatku energie. Mezitím dochází k hromadění odpadních produktů metabolismu. Při reperfuzi, kdy je obnoven přívod krve, vzniká poškození, které bývá mnohem závažnější než to způsobené samotnou ischemií. Důležitou roli při tom hraje iontová dysbalance a oxidační stres, kdy vzniklé ROS poškozují buňky. Významné může být také spuštění zánětlivých procesů a apoptózy (de Groot and Rauen, 2007). Právě TP je jedna z metod zajišťující ochranu proti tomuto typu poškození.

4.1.1 I/R poškození

Při nedostatečném zásobení tkáně kyslíkem, zapříčiněném ischemií (obrázek 4), nemůže v mitochondriích nadále probíhat oxidativní fosforylace a výsledkem je snížení hladiny ATP. Mezitím je spuštěna anaerobní glykolýza, nicméně tento způsob získávání ATP není dostatečně efektivní. Dochází ke snížení pH cytosolu, kterému přispívá vytvořený laktát a uvolněné H^+ např. z lysozomů. Na zvýšenou koncentraci H^+ reaguje Na^+/H^+ transportér a ionty Na^+ vstupují do buňky. Iontová homeostáza je narušena a v cytosolu stoupne koncentrace Ca^{2+} a Na^+ . Pokles ATP má totiž negativní vliv na funkci Na^+/K^+ -ATPázy, která pak není schopna odstranit přebytek Na^+ z buňky. Také je ovlivněn Na^+/Ca^{2+} antiportér, který začne přenášet ionty v opačném směru, tzn. Ca^{2+} do buňky. Zvýšená koncentrace těchto iontů v cytosolu zapříčiní aktivaci některých hydroláz a proteáz, které mohou štěpit např. cytoskeletální proteiny. Na vychytávání cytosolického Ca^{2+} (při jeho vysoké koncentraci) se aktivně podílejí mitochondrie,

ale jejich kapacita je omezená a vlivem zvýšeného Ca^{2+} mohou být narušeny mitochondriální funkce. Nahromaděním Na^+ a Ca^{2+} v cytosolu vzniká hypertonické prostředí, do buněk proniká voda a dochází k buněčnému otoku. Následně může být poškozena plazmatická membrána, což vede k nekróze (de Groot and Rauen, 2007).

Při reperfuzi (obrázek 4), kdy je obnoven přísun kyslíku, dochází k nadměrné tvorbě ROS mitochondriemi. Reperfuze také zajistí obnovu hodnoty pH, což společně s uvolněnými ROS a Ca^{2+} nahromaděnými v matrix mitochondrií vede k otevírání MPTP (mitochondriálního póru přechodné permeability). To může zapříčinit otok mitochondrií. Pokud dojde k narušení vnější mitochondriální membrány a uvolnění apoptotických faktorů, je vyvolána buněčná smrt (Sanderson et al., 2013). Otevření tohoto nespecifického póru, umístěného na vnitřní straně mitochondriální membrány, umožní přístup cytosolickému ATP k mitochondriální ATPáze, a to vede k jeho další degradaci (de Groot and Rauen, 2007). Dalším důležitým zdrojem ROS je také NADPH oxidáza (Loukogeorgakis et al., 2010). Nadprodukce ROS vede k nevratnému poškození buněk, se kterým neumí antioxidační systém buňky bojovat. Poškození vzniká v důsledku vysoké reaktivity ROS, které reagují s jinými molekulami v organismu, především s NK, lipidy a proteiny, čímž mění jejich funkce a mohou zprostředkovat buněčnou smrt.



Obrázek 4: Znázornění hlavních buněčných procesů probíhajících při ischemii a reperfuzi. Převzato a upraveno z: (Xia et al., 2016).

S I/R poškozením souvisí i spuštění zánětlivých procesů. Dochází k aktivaci endotelu a expresi adhezních molekul, jako jsou např. ICAM, VCAM, a selektiny. To vede k interakci mezi leukocyty a buňkami aktivovaného endotelu a následné infiltraci leukocytů do poškozených tkání. Buňky imunitního systému dále začnou uvolňovat látky podílející se na zesílení zánětlivé odpovědi, např. různé prozánětlivé cytokiny nebo NO (Danton and Dietrich, 2003).

4.1.2 Vliv TP

Výše zmíněné procesy probíhají obdobně napříč jednotlivými orgány při jejich vystavení ischemii a následné reperfuzi a nejsou tkáňově specifické. Jednotlivé orgány jsou ale různě citlivé k I/R poškození. TP zvýšená odolnost vůči tomuto poškození byla pozorována na zvířecích modelech např. v srdci (Donnelly et al., 1992; Currie et al., 1993), v buňkách nervové tkáně a v mozku (Xu et al., 2002; Chen et al., 2004; Du et al., 2010), v plicích (Javadpour et al., 1998; McCormick et al., 2003; Luh et al., 2007), v ledvinách (Stokes et al., 1996) i v játrech (Kimoto et al., 2000; Terajima et al., 2000).

TP se na ochraně proti tomuto typu poškození podílí spuštěním signálních drah zmíněných v přechozí kapitole. Kinázy signálních kaskád mohou fosforylovat, a tím aktivovat, popř. inhibovat různé efektorové molekuly, např. některé proapoptotické faktory. Dále třeba prostřednictvím PKC ϵ , která je během TP aktivována (Joyeux et al., 1997), dochází k otevírání K_{ATP} kanálů (Ito et al., 2001), které se vyskytují na buněčné membráně i na membráně mitochondrií. Význam otevírání K_{ATP} kanálů při navození protekce byl zkoumán v buňkách myokardu (Pell et al., 1997), ale jak přesně se tyto kanály podílejí na ochraně zprostředkované TP, není jasné. Aktivací antioxidantního systému se buňka vyrovnává se vzniklými ROS (Marie Joyeux et al., 1997; Yamashita et al., 1997). Dochází i k potlačení zánětlivé reakce, vzhledem k tomu, že bylo možné pozorovat snížené hladiny prozánětlivých cytokinů (IL-1 β , IL-6, TNF α) a sníženou expresi adhezních molekul (ICAM, VCAM, selektinů) (Luh et al., 2007; Li et al., 2012).

4.2 Transplantace

Jednou z oblastí, kde by mohl být TP využíván, je příprava štěpů před transplantací. To by se mohlo týkat některých výše zmíněných orgánů, kde byla pozorována následná odolnost vůči I/R poškození, které je nevyhnutelnou součástí těchto zákroků, stejně jako spuštění zánětlivých reakcí. Možnost využití TP při transplantacích podporuje např. i studie, ve které

vystavení orgánu hypertermii, konkrétně myších ledvin, zajistilo zachování jejich běžných funkcí. Ty mohou být narušeny během prezervace štěpů v chladu, což je jedna z metod prezervace orgánů před transplantováním do těla recipienta. Poškození funkcí se projevilo u kontrolní skupiny ledvin, které před tím nebyly vystaveny hypertermii. I doba, po kterou mohly být štěpy mimo tělo, byla delší u skupiny vystavené TP (Redaelli et al., 2002).

Obdobně příznivý účinek byl pozorován také u myších srdcí. Lokální zahřátí levé komory před prezervací v chladu vedlo k prodloužení doby, po kterou mohla být srdce takto uchovávána, aniž by došlo k jejich poškození. Hypertermie zajistila i zlepšení systolické a diastolické funkce. Tyto funkce byly narušeny u kontrolních srdcí, které hypertermii vystaveny nebyly (Kevelaitis et al., 2001).

Dalším příkladem, kdy se TP ukázal jako spolehlivá metoda, je jeho použití během kultivace lidských nádorových buněk, později transplantovaných do těla zvířat (PDX, z angl. patient derived xenografts). Zvířata se v takovém případě používají jako prostředí, kde mohou nádorové buňky růst a být dále zkoumány v rámci léčby rakoviny. Nicméně ne vždy jsou v těle zvířete vhodné podmínky pro transplantované buňky a právě TP může zajistit jejich lepší odolnost (Zeng et al., 2016).

4.3 Vliv na muskuloskeletální aparát

Jinou oblastí, kde by TP mohl najít své uplatnění, je ochrana měkkých tkání před komplikacemi, ke kterým dochází v důsledku jejich operací. Konkrétně byl vliv TP zkoumán s ohledem na možné předcházení srůstu šlach, což je běžný pooperační stav, který vede k omezení pohybu. TP relativně spolehlivě zmírnil srůst šlach u myší a zabránil vyvolání zánětlivé odpovědi, pravděpodobně prostřednictvím HSP72 (Mulhall et al., 2002; Healy et al., 2007; Tan et al., 2017). Zvýšená hladina HSP72 vlivem TP byla také zkoumána s ohledem na možné zmírnění atrofie myšího lýtkového svalu vzniklé v důsledku nedostatečné fyzické aktivity (Takeda et al., 2009). I tato studie přinesla pozitivní výsledky, jelikož ke zmírnění atrofie opravdu došlo.

4.4 Vliv na hojení ran

TP se ukázal jako efektivní metoda také při předcházení potíží s hojením operačních ran. Zahřátí myší tkáně na 43°C po dobu 10-40 min v místě, kde byl později proveden chirurgický řez, zajistilo lepší a rychlejší průběh hojení. Roli při tom nejspíš hrály HSP70, jejichž syntéza

byla zvýšena díky TP (Wilmink et al., 2009). Potíže s hojením ran jsou časté např. u diabetiků a TP by se mohl využívat před plánovanými operacemi jako prevence těchto komplikací.

4.5 Ochrana před termálním poškozením

Při laserových operacích dochází k zahřátí tkáně v okolí místa, kam je paprsek namířen, což může vést k poškození této tkáně. Např. během operace očí může takové zahřátí vyvolat apoptózu zdravých keratocytů, to se projeví zašednutím rohovkového stromatu. TP, pravděpodobně prostřednictvím zvýšení exprese HSP, může zajistit odolnost buněk i proti tomuto typu poškození. Nasvědčuje tomu studie, kde promývání myšího oka zahřátým fyziologickým roztokem před provedením laserové operace zajistilo zvýšení teploty rohovky na 43°C, což následně vedlo ke zlepšení hojení rány a zmírnění zašednutí rohovky (Kim et al., 2004).

4.6 Ochrana před cytotoxicitou léčiv

Doxorubicin je antibiotikum často používané při léčbě různých nádorových onemocnění. Nicméně má vedlejší kardiotoxické účinky, což omezuje možnosti jeho využití v klinické praxi. TP se ukázal jako jedna z metod, která zajistila lepší odolnost buněk vůči apoptóze vyvolané právě tímto léčivem. Bylo to prokázáno na kultuře myších buněk myokardu, které byly 24 hodin před použitím doxorubicinu vystaveny teplotě 42°C po dobu 30 min. V buňkách nedošlo ke spuštění apoptózy, na čemž se pravděpodobně podílely HSP70, vzhledem k tomu, že po přidání antisense oligonukleotidů těchto proteinů byl narušen cytoprotektivní efekt TP (Ito et al., 1999).

4.7 Neurodegenerativní poruchy

Apoptóza hraje roli i v patogenezi některých neurodegenerativních poruch, jakými jsou např. Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba, Huntingtonova choroba či amyotrofická laterální skleróza. Vzhledem ke svým antiapoptotickým účinkům je TP některými studiemi navrhován jako potenciální prostředek léčby těchto onemocnění (Cao et al., 2007). Jde ale o chronická onemocnění a TP navozuje jen přechodnou protekci. Aby tedy mohl být v této oblasti využíván, musel by být aplikován opakovaně.

4.8 Příklady klinického využití

Jeden z pokusů o převedení této metody do praxe ukazuje studie z roku 2018, kdy byl TP aplikován před operací kolorektálního karcinomu, po jejímž provedení bývá často problémem infekce v místě operačního výkonu. Bohužel mezi kontrolní skupinou (21 lidí) a skupinou vystavenou TP (20 lidí) nebyl pozorován žádný rozdíl v hladinách prozánětlivých cytokinů TNF α , IL-1 a IL-6 a nedošlo ani ke zmírnění infekce po operaci. Nevýhodou této studie je malý počet testovaných lidí (41). Zároveň je možné, že použití jiného modelu TP by vedlo k lepším výsledkům. Zde byla teplota pacientů zvýšena na 39°C po dobu 1 hodiny přibližně 12 hodin před zákrokem (Attaallah et al., 2018).

TP se ale jako účinná metoda ukázal při předcházení poškození svalů, ke kterému by mohlo dojít během excentrického cvičení. U 11 osob byl TP aplikován na svaly předloktí jedné ruky 16–20 hodin před jejich excentrickou kontrakcí. Teplota svalů byla zvýšena na 40°C po dobu 20 minut. V porovnání s druhou rukou, která nebyla vystavena vyšší teplotě, bylo možné pozorovat značné zmírnění poškození, kdy nedošlo k omezení pohyblivosti svalů a osoby nepociťovaly bolest (Nosaka et al., 2007).

5 Závěr

Termální preconditioning představuje metodu, při níž se využívá různých změn na buněčné úrovni, ke kterým dojde, pokud jsou buňky vystaveny neletálním stresovým podmínkám. V případě TP je to mírně zvýšená teplota. Tyto změny, které zahrnují spuštění určitých signálních drah, regulaci genové exprese, syntézu nových proteinů a další adaptace, mohou zajistit, že se buňky stanou odolnějšími vůči dalším stresovým podnětům, které by jinak působily letálně. Výhodou této metody je její snadná proveditelnost a ekonomická nenáročnost. Cílem práce bylo shrnout dosud známé poznatky o vlivu TP na organismus a představit alespoň některé oblasti, kde by se tato metoda mohla využívat.

Přesný molekulární mechanismus, který stojí za protektivními účinky, zatím není dostatečně prozkoumán. Nicméně na základě provedených studií je možné říci, že obvykle dochází k aktivaci signálních drah, které jsou spojeny s kinázami PI3-K/Akt a MAPK. Velkou roli ve zprostředkování cytoprotekce hrají i nově nasyntetizované proteiny, což se odráží i na tom, že protektivní účinky není možné pozorovat ihned po aplikaci TP, ale až v pozdějších hodinách.

Lepší pochopení mechanismu, kterým TP na organismus působí, je důležité pro stanovení přesných podmínek, za jakých by mohla být metoda prováděna tak, aby byla co nejvíce efektivní, ale zároveň nezpůsobovala žádné vedlejší účinky. Úkolem budoucího výzkumu je tedy definovat např. vhodnou teplotu a časový interval, který je potřeba dodržet mezi aplikací TP a vystavením dalšímu stresovému podnětu. V mnohých studiích, prováděných na zvířecích modelech, se jako ideální teplota ukázalo 42°C a více. Taková teplota by ale mohla být pro člověka spíše škodlivá, což značně omezuje možnosti jejího využití. Celkový nedostatek studií na lidech představuje překážku v převádění této metody do klinické praxe.

TP by mohl být využíván v nejrůznějších oblastech. Například při ochraně orgánů před negativními vlivy ischemie a reperfuze, které jsou nevyhnutelnou součástí při transplantacích. Dále při předcházení poškození svalů a šlach, ke kterému může dojít třeba vlivem cvičení nebo jejich operací. TP by také mohl chránit buňky před působením některých cytotoxických léčiv a jako slibná se tato metoda jeví i v rámci usnadnění hojení operačních ran. Některé studie dokonce navrhuji možnost využití TP, jakožto prostředku při předcházení vzniku neurodegenerativních poruch.

6 Seznam literatury

* označuje sekundární citace

- Abravaya, K., Myers, M.P., Murphy, S.P., Morimoto, R.I., 1992. The human heat shock protein hsp70 interacts with HSF, the transcription factor that regulates heat shock gene expression. *Genes Dev.* 6, 1153–1164. <https://doi.org/10.1101/gad.6.7.1153>
- Arnaud, C., Joyeux, M., Garrel, C., Godin-Ribuot, D., Demenge, P., Ribuot, C., 2002. Free-radical production triggered by hyperthermia contributes to heat stress-induced cardioprotection in isolated rat hearts. *Br. J. Pharmacol.* 135, 1776–1782. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704619>
- Arnaud, C., Joyeux-Faure, M., Bottari, S., Godin-Ribuot, D., Ribuot, C., 2004. New insight into the signalling pathways of heat stress-induced myocardial preconditioning: Protein kinase C epsilon translocation and heat shock protein 27 phosphorylation. *Clinical and experimental pharmacology & physiology* 31, 129–33. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2004.03966.x>
- Arnaud, C., Joyeux-Faure, M., Godin-Ribuot, D., Ribuot, C., 2003. COX-2: an in vivo evidence of its participation in heat stress-induced myocardial preconditioning. *Cardiovasc. Res.* 58, 582–588. [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(03\)00295-5](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(03)00295-5)
- Arnaud, C., Laubriet, A., Joyeux, M., Godin-Ribuot, D., Rochette, L., Demenge, P., Ribuot, C., 2001. Role of nitric oxide synthases in the infarct size-reducing effect conferred by heat stress in isolated rat hearts. *Br J Pharmacol* 132, 1845–1851. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703942>
- Attaallah, W., Şen, L.S., Aktan, A.Ö., Ekşioğlu, E.D., Eti, Z., Güler, S.A., Cingi, A., 2018. Does hyperthermic preconditioning affect the rate of surgical site infection rate and inflammatory reaction in colorectal cancer patients? A prospective randomized clinical trial. *Turk J Surg* 34, 282–285. <https://doi.org/10.5152/turkjsurg.2018.3981>
- Balafanova, Z., Bolli, R., Zhang, J., Zheng, Y., Pass, J.M., Bhatnagar, A., Tang, X.-L., Wang, O., Cardwell, E., Ping, P., 2002. Nitric oxide (NO) induces nitration of protein kinase Cepsilon (PKCepsilon), facilitating PKCepsilon translocation via enhanced PKCepsilon -RACK2 interactions: a novel mechanism of no-triggered activation of PKCepsilon. *J. Biol. Chem.* 277, 15021–15027. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112451200>
- Beere, H.M., Wolf, B.B., Cain, K., Mosser, D.D., Mahboubi, A., Kuwana, T., Tailor, P., Morimoto, R.I., Cohen, G.M., Green, D.R., 2000. Heat-shock protein 70 inhibits apoptosis by preventing recruitment of procaspase-9 to the Apaf-1 apoptosome. *Nature Cell Biology* 2, 469–475. <https://doi.org/10.1038/35019501>
- Bijur, G.N., Jope, R.S., 2000. Opposing Actions of Phosphatidylinositol 3-Kinase and Glycogen Synthase Kinase-3β in the Regulation of HSF-1 Activity. *Journal of Neurochemistry* 75, 2401–2408. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2000.0752401.x>
- Cao, L., Cao, D., Su, X., Chen, L., Liu, A., Jian, W., Wu, Y., Qiu, P., Yan, G., 2007. Activation of PI3-K/Akt pathway for thermal preconditioning to protect cultured cerebellar granule neurons against low potassium-induced apoptosis. *Acta Pharmacologica Sinica* 28, 173–179. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7254.2007.00504.x>

- Chen, L., Su, X., Qiu, P., Huang, Y., Yan, G., 2004. Thermal preconditioning protected cerebellar granule neurons of rats by modulating HSP70 expression. *Acta Pharmacol. Sin.* 25, 458–461.
- Chou, S.-D., Prince, T., Gong, J., Calderwood, S.K., 2012. mTOR Is Essential for the Proteotoxic Stress Response, HSF1 Activation and Heat Shock Protein Synthesis. *PLoS One* 7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039679>
- Chu, B., Soncin, F., Price, B.D., Stevenson, M.A., Calderwood, S.K., 1996. Sequential Phosphorylation by Mitogen-activated Protein Kinase and Glycogen Synthase Kinase 3 Represses Transcriptional Activation by Heat Shock Factor-1. *J. Biol. Chem.* 271, 30847–30857. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.48.30847>
- Currie, R.W., Tanguay, R.M., Kingma, J.G., 1993. Heat-shock response and limitation of tissue necrosis during occlusion/reperfusion in rabbit hearts. *Circulation* 87, 963–971. <https://doi.org/10.1161/01.cir.87.3.963>
- * Danton, G.H., Dietrich, W.D., 2003. Inflammatory mechanisms after ischemia and stroke. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 62, 127–136. <https://doi.org/10.1093/jnen/62.2.127>
- * de Groot, H., Rauen, U., 2007. Ischemia-Reperfusion Injury: Processes in Pathogenetic Networks: A Review. *Transplantation Proceedings* 39, 481–484. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2006.12.012>
- Ding, Q., Xia, W., Liu, J.C., Yang, J.Y., Lee, D.F., Xia, J., Bartholomeusz, G., Li, Y., Pan, Y., Li, Z., Bargou, R.C., Qin, J., Lai, C.-C., Tsai, F.-J., Tsai, C.-H., Hung, M.-C., 2005. Erk associates with and primes GSK-3 β for its inactivation resulting in upregulation of beta-catenin. *Mol. Cell* 19, 159–170. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2005.06.009>
- Donnelly, T.J., Sievers, R.E., Vissern, F.L., Welch, W.J., Wolfe, C.L., 1992. Heat shock protein induction in rat hearts. A role for improved myocardial salvage after ischemia and reperfusion? *Circulation* 85, 769–778. <https://doi.org/10.1161/01.cir.85.2.769>
- Du, F., Zhu, L., Qian, Z. M., Wu, X. M., Yung, W. H., Ke, Y., 2010. Hyperthermic preconditioning protects astrocytes from ischemia/reperfusion injury by up-regulation of HIF-1 α expression and binding activity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1802, 1048–1053. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2010.06.013>
- Ewing, J.F., Raju, V.S., Maines, M.D., 1994. Induction of heart heme oxygenase-1 (HSP32) by hyperthermia: possible role in stress-mediated elevation of cyclic 3':5'-guanosine monophosphate. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 271, 408–414.
- Gerazova-Efremova, K., Dinevska-Kjovkarovska, S., Miova, B., 2019. Heat-Shock Protein 70-Mediated Heat Preconditioning Attenuates Hepatic Carbohydrate and Oxidative Disturbances in Rats With Type 1 Diabetes. *Canadian Journal of Diabetes* 43, 345–353. <https://doi.org/10.1016/j.jcjd.2019.01.002>
- Gill, R.R., Gbur, J., Charles J., Fisher, B.J., Hess, M.L., Fowler, I., Alpha A., Kukreja, R.C., Sholley, M.M., 1998. Heat Shock Provides Delayed Protection against Oxidative Injury in Cultured Human Umbilical Vein Endothelial Cells. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 30, 2739–2749. <https://doi.org/10.1006/jmcc.1998.0837>

- Gong, B., Bell, B., Boor, P.J., Albrecht, T.B., Asimakis, G.K., Motamedi, M., 2008. Cardiac Preconditioning With Local Laser-Induced Hyperthermia. *Journal of Surgical Research* 149, 177–183. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2008.02.040>
- Gowda, A., Yang, C.J., Asimakis, G.K., Ruef, J., Rastegar, S., Runge, M.S., Motamedi, M., 1998. Cardioprotection by local heating: improved myocardial salvage after ischemia and reperfusion. *Ann. Thorac. Surg.* 65, 1241–1247. [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(98\)00117-9](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(98)00117-9)
- Guay, J., Lambert, H., Gingras-Breton, G., Lavoie, J.N., Huot, J., Landry, J., 1997. Regulation of actin filament dynamics by p38 map kinase-mediated phosphorylation of heat shock protein 27. *J. Cell. Sci.* 110 (Pt 3), 357–368.
- Han, S.I., Oh, S.Y., Jeon, W.J., Kim, J.M., Lee, J.H., Chung, H.Y., Choi, Y.H., Yoo, M.A., Kim, H.D., Kang, H.S., 2002. Mild heat shock induces cyclin D1 synthesis through multiple Ras signal pathways. *FEBS Letters* 515, 141–145. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(02\)02459-6](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(02)02459-6)
- Healy, C., Mulhall, K.J., Patrick, D.F., Kay, E.W., Bouchier-Hayes, D., 2007. The effect of thermal preconditioning of the limb on flexor tendon healing. *J Hand Surg Eur Vol* 32, 289–295. <https://doi.org/10.1016/J.JHSB.2007.01.004>
- Hoag, J.B., Qian, Y.Z., Nayeem, M.A., D’Angelo, M., Kukreja, R.C., 1997. ATP-sensitive potassium channel mediates delayed ischemic protection by heat stress in rabbit heart. *Am. J. Physiol.* 273, H2458–2464. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1997.273.5.H2458>
- Hoshida, S., Yamashita, N., Otsu, K., Hori, M., 2002. Repeated physiologic stresses provide persistent cardioprotection against ischemia-reperfusion injury in rats. *J. Am. Coll. Cardiol.* 40, 826–831. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(02\)02001-6](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(02)02001-6)
- Huang, S. C., Tsai, Y. F., Cheng, Y. S., Liu, K. H., Li, P.C., Chien, C.T., 2009. Vascular protection with less activation evoked by progressive thermal preconditioning in adrenergic receptor-mediated hypertension and tachycardia. *Chin J Physiol* 52, 419–425. <https://doi.org/10.4077/cjp.2009.amh048>
- Huang, W. J., Xia, L. M., Zhu, F., Huang, B., Zhou, C., Zhu, H. F., Wang, B., Chen, B., Lei, P., Shen, G.-X., De-AnTian, 2009. Transcriptional upregulation of HSP70-2 by HIF-1 in cancer cells in response to hypoxia. *International Journal of Cancer* 124, 298–305. <https://doi.org/10.1002/ijc.23906>
- Ilievska, G., Dinevska-Kjovkarovska, S., Miova, B., 2018. Effect of single and repeated heat stress on chemical signals of heat shock response cascade in the rat’s heart. *Cell Stress and Chaperones* 23, 561–570. <https://doi.org/10.1007/s12192-017-0863-0>
- Ito, H., Shimojo, T., Fujisaki, H., Tamamori, M., Ishiyama, S., Adachi, S., Abe, S., Marumo, F., Hiroe, M., 1999. Thermal preconditioning protects rat cardiac muscle cells from doxorubicin-induced apoptosis. *Life Sci.* 64, 755–761. [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(98\)00617-1](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(98)00617-1)
- Ito, K., Sato, T., Arita, M., 2001. Protein kinase C isoform-dependent modulation of ATP-sensitive K⁺ channels during reoxygenation in guinea-pig ventricular myocytes. *J. Physiol. (Lond.)* 532, 165–174. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2001.0165g.x>

- Javadpour, M., Kelly, C.J., Chen, G., Stokes, K., Leahy, A., Bouchier-Hayes, D.J., 1998. Thermotolerance induces heat shock protein 72 expression and protects against ischaemia-reperfusion-induced lung injury. *Br J Surg* 85, 943–946. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2168.1998.00722.x>
- Joyeux, M., Baxter, G.F., Thomas, D.L., Ribuot, C., Yellon, D.M., 1997. Protein kinase C is involved in resistance to myocardial infarction induced by heat stress. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 29, 3311–3319. <https://doi.org/10.1006/jmcc.1997.0556>
- Joyeux, M., Godin-Ribuot, D., Patel, A., Demenge, P., Yellon, D.M., Ribuot, C., 1998a. Infarct size-reducing effect of heat stress and alpha1 adrenoceptors in rats. *Br. J. Pharmacol.* 125, 645–650. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0702137>
- Joyeux, M., Godin-Ribuot, D., Ribuot, C., 1998b. Resistance to myocardial infarction induced by heat stress and the effect of ATP-sensitive potassium channel blockade in the rat isolated heart. *Br. J. Pharmacol.* 123, 1085–1088. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0701710>
- Joyeux, Marie, Ribuot, C., Bourlier, V., Verdeti, J., Durand, A., Richard, M.-J., Godin-Ribuot, D., Demenge, P., 1997. In Vitro Antiarrhythmic Effect of Prior Whole Body Hyperthermia: Implication of Catalase. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 29, 3285–3292. <https://doi.org/10.1006/jmcc.1997.0554>
- Kataoka, Y., Yoshida, F., 2005. The change of hemodynamics and heart rate variability on bathing by the gap of water temperature. *Biomed. Pharmacother.* 59 Suppl 1, S92–99. [https://doi.org/10.1016/s0753-3322\(05\)80016-2](https://doi.org/10.1016/s0753-3322(05)80016-2)
- Kelty, J., Noseworthy, P., Feder, M., Robertson, R., Ramirez, J.-M., 2002. Thermal Preconditioning and Heat-Shock Protein 72 Preserve Synaptic Transmission during Thermal Stress. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience* 22, RC193. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-01-j0004.2002>
- Kevelaitis, E., Patel, A.P., Oubenaissa, A., Peynet, J., Mouas, C., Yellon, D.M., Menasché, P., 2001. Backtable heat-enhanced preconditioning: a simple and effective means of improving function of heart transplants. *Ann. Thorac. Surg.* 72, 107–112; discussion 112–113. [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(01\)02495-x](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(01)02495-x)
- Kim, J.M., Kim, J.C., Park, W.C., Seo, J.-S., Chang, H.R., 2004. Effect of thermal preconditioning before excimer laser photoablation. *J. Korean Med. Sci.* 19, 437–446. <https://doi.org/10.3346/jkms.2004.19.3.437>
- Kimoto, S., Yamamoto, Y., Yamagami, K., Ishikawa, Y., Kume, M., Yamamoto, H., Ozaki, N., Yamaoka, Y., 2000. The augmentative effect of repeated heat shock preconditioning on the production of heat shock protein 72 and on ischemic tolerance in rat liver tissue. *Int J Hyperthermia* 16, 247–261. <https://doi.org/10.1080/026567300285268>
- Légaré, J. F., Oxner, A., Heimrath, O., Myers, T., Currie, R.W., 2007. Heat shock treatment results in increased recruitment of labeled PMN following myocardial infarction. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 293, H3210–3215. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00773.2007>

- Li, P., Nijhawan, D., Budihardjo, I., Srinivasula, S.M., Ahmad, M., Alnemri, E.S., Wang, X., 1997. Cytochrome c and dATP-Dependent Formation of Apaf-1/Caspase-9 Complex Initiates an Apoptotic Protease Cascade. *Cell* 91, 479–489. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80434-1](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80434-1)
- Li, P. C., Yang, C. C., Hsu, S. P., Chien, C. T., 2012. Repetitive progressive thermal preconditioning hinders thrombosis by reinforcing phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-dependent heat-shock protein/endothelial nitric oxide synthase signaling. *Journal of Vascular Surgery* 56, 159–170. <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2011.11.062>
- Loukogeorgakis, S.P., van den Berg, M.J., Sofat, R., Nitsch, D., Charakida, M., Haiyee, B., de Groot, E., MacAllister, R.J., Kuijpers, T.W., Deanfield, J.E., 2010. Role of NADPH oxidase in endothelial ischemia/reperfusion injury in humans. *Circulation* 121, 2310–2316. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.814731>
- Luh, S. P., Kuo, P. H., Kuo, T. F., Tsai, T. P., Tsao, T.C. Y., Chen, J. Y., Tsai, C.-H., Yang, P.-C., 2007. Effects of thermal preconditioning on the ischemia-reperfusion-induced acute lung injury in minipigs. *Shock* 28, 615–622. <https://doi.org/10.1097/shk.0b013e318050c694>
- Magrané, J., Rosen, K.M., Smith, R.C., Walsh, K., Gouras, G.K., Querfurth, H.W., 2005. Intraneuronal beta-amyloid expression downregulates the Akt survival pathway and blunts the stress response. *J. Neurosci.* 25, 10960–10969. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1723-05.2005>
- Maroni, P., Bendinelli, P., Tiberio, L., Rovetta, F., Piccoletti, R., Schiaffonati, L., 2003. In vivo heat-shock response in the brain: signalling pathway and transcription factor activation. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 119, 90–99. <https://doi.org/10.1016/j.molbrainres.2003.08.018>
- Maroni, P., Bendinelli, P., Zuccorononno, C., Schiaffonati, L., Piccoletti, R., 2000. Cellular signalling after in vivo heat shock in the liver. *Cell Biol. Int.* 24, 145–152. <https://doi.org/10.1006/cbir.1999.0493>
- Martin, J.L., Mestrlil, R., Hilal-Dandan, R., Brunton, L.L., Dillmann, W.H., 1997. Small heat shock proteins and protection against ischemic injury in cardiac myocytes. *Circulation* 96, 4343–4348. <https://doi.org/10.1161/01.cir.96.12.4343>
- McCormick, P.H., Chen, G., Tierney, S., Kelly, C.J., Bouchier-Hayes, D.J., 2003. Clinically applicable thermal preconditioning attenuates leukocyte-endothelial interactions. *J. Am. Coll. Surg.* 197, 71–78. [https://doi.org/10.1016/S1072-7515\(03\)00392-2](https://doi.org/10.1016/S1072-7515(03)00392-2)
- Mulhall, K.J., McLaughlin, R., Kay, E., Kiely, P., Bouchier-Hayes, D., Murray, P., 2002. Thermal preconditioning prevents peritendinous adhesions and inflammation. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 258–266. <https://doi.org/10.1097/00003086-200212000-00033>
- Nakabe, N., Kokura, S., Shimozawa, M., Katada, K., Sakamoto, N., Ishikawa, T., Handa, O., Takagi, T., Naito, Y., Yoshida, N., Yoshikawa, T., 2007. Hyperthermia attenuates TNF- α -induced up regulation of endothelial cell adhesion molecules in human arterial endothelial cells. *Int J Hyperthermia* 23, 217–224. <https://doi.org/10.1080/02656730601143295>

- Nosaka, K., Muthalib, M., Lavender, A., Laursen, P.B., 2007. Attenuation of muscle damage by preconditioning with muscle hyperthermia 1-day prior to eccentric exercise. *Eur. J. Appl. Physiol.* 99, 183–192. <https://doi.org/10.1007/s00421-006-0331-5>
- Pan, P.J., Hsu, C.F., Tsai, J.J., Chiu, J.H., 2012. The Role of Oxidative Stress Response Revealed in Preconditioning Heat Stimulation in Skeletal Muscle of Rats. *Journal of Surgical Research* 176, 108–113. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2011.09.027>
- Pandey, P., Saleh, A., Nakazawa, A., Kumar, S., Srinivasula, S.M., Kumar, V., Weichselbaum, R., Nalin, C., Alnemri, E.S., Kufe, D., Kharbanda, S., 2000. Negative regulation of cytochrome c-mediated oligomerization of Apaf-1 and activation of procaspase-9 by heat shock protein 90. *EMBO J* 19, 4310–4322. <https://doi.org/10.1093/emboj/19.16.4310>
- * Park, H.G., Han, S.I., Oh, S.Y., Kang, H.S., 2005. Cellular responses to mild heat stress. *CMLS, Cell. Mol. Life Sci.* 62, 10–23. <https://doi.org/10.1007/s00018-004-4208-7>
- Paul, C., Manero, F., Gonin, S., Kretz-Remy, C., Virot, S., Arrigo, A.-P., 2002. Hsp27 as a Negative Regulator of Cytochrome c Release. *Mol Cell Biol* 22, 816–834. <https://doi.org/10.1128/MCB.22.3.816-834.2002>
- Pell, T.J., Yellon, D.M., Goodwin, R.W., Baxter, G.F., 1997. Myocardial Ischemic Tolerance Following Heat Stress Is Abolished by ATP-Sensitive Potassium Channel Blockade. *Cardiovasc Drugs Ther* 11, 679–686. <https://doi.org/10.1023/A:1007791009080>
- Pittet, J.F., Lu, L.N., Geiser, T., Lee, H., Matthay, M.A., Welch, W.J., 2002. Stress preconditioning attenuates oxidative injury to the alveolar epithelium of the lung following haemorrhage in rats. *J. Physiol. (Lond.)* 538, 583–597. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2001.013102>
- Ran, R., Lu, A., Zhang, L., Tang, Y., Zhu, H., Xu, H., Feng, Y., Han, C., Zhou, G., Rigby, A.C., Sharp, F.R., 2004. Hsp70 promotes TNF-mediated apoptosis by binding IKK γ and impairing NF- κ B survival signaling. *Genes Dev.* 18, 1466–1481. <https://doi.org/10.1101/gad.1188204>
- Redaelli, C.A., Tien, Y.-H., Kubulus, D., Mazzucchelli, L., Schilling, M.K., Wagner, A.C.C., 2002. Hyperthermia Preconditioning Induces Renal Heat Shock Protein Expression, Improves Cold Ischemia Tolerance, Kidney Graft Function and Survival in Rats. *NEF* 90, 489–497. <https://doi.org/10.1159/000054739>
- * Sanderson, T.H., Reynolds, C.A., Kumar, R., Przyklenk, K., Hüttemann, M., 2013. Molecular Mechanisms of Ischemia–Reperfusion Injury in Brain: Pivotal Role of the Mitochondrial Membrane Potential in Reactive Oxygen Species Generation. *Mol Neurobiol* 47, 9–23. <https://doi.org/10.1007/s12035-012-8344-z>
- Scheid, M.P., Schubert, K.M., Duronio, V., 1999. Regulation of bad phosphorylation and association with Bcl-x(L) by the MAPK/Erk kinase. *J. Biol. Chem.* 274, 31108–31113. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.43.31108>
- * Sharma, J.N., Al-Omran, A., Parvathy, S.S., 2007. Role of nitric oxide in inflammatory diseases. *Inflammopharmacology* 15, 252–259. <https://doi.org/10.1007/s10787-007-0013-x>

- Stokes, K.Y., Abdih, H.K., Kelly, C.J., Redmond, H.P., Bouchier-Hayes, D.J., 1996. Thermotolerance attenuates ischemia-reperfusion induced renal injury and increased expression of ICAM-1. *Transplantation* 62, 1143–1149. <https://doi.org/10.1097/00007890-199610270-00020>
- Takeda, I., Fujino, H., Murakami, S., Kondo, H., Nagatomo, F., Ishihara, A., 2009. Thermal preconditioning prevents fiber type transformation of the unloading induced-atrophied muscle in rats. *J. Muscle Res. Cell. Motil.* 30, 145–152. <https://doi.org/10.1007/s10974-009-9183-z>
- Tan, Y., Wu, Q. F., Wu, Q., Tan, X. T., Chen, L. B., Wang, X., 2017. Thermal Preconditioning May Prevent Tendon Adhesion by Up-Regulating HSP72 in Rats. *CPB* 42, 1623–1634. <https://doi.org/10.1159/000479403>
- Terajima, H., Enders, G., Thiaener, A., Hammer, C., Kondo, T., Thiery, J., Yamamoto, Y., Yamaoka, Y., Messmer, K., 2000. Impact of hyperthermic preconditioning on postischemic hepatic microcirculatory disturbances in an isolated perfusion model of the rat liver. *Hepatology* 31, 407–415. <https://doi.org/10.1002/hep.510310221>
- Thomas, S., Pulimood, A., Balasubramanian, K.A., 2003. Heat preconditioning prevents oxidative stress-induced damage in the intestine and lung following surgical manipulation. *Br J Surg* 90, 473–481. <https://doi.org/10.1002/bjs.4062>
- Thompson, S.M., Callstrom, M.R., Jondal, D.E., Butters, K.A., Knudsen, B.E., Anderson, J.L., Lien, K.R., Sutor, S.L., Lee, J.-S., Thorgerirsson, S.S., Grande, J.P., Roberts, L.R., Woodrum, D.A., 2016. Heat Stress-Induced PI3K/mTORC2-Dependent AKT Signaling Is a Central Mediator of Hepatocellular Carcinoma Survival to Thermal Ablation Induced Heat Stress. *PLoS ONE* 11, e0162634. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162634>
- * Velichko, A.K., Markova, E.N., Petrova, N.V., Razin, S.V., Kantidze, O.L., 2013. Mechanisms of heat shock response in mammals. *Cell. Mol. Life Sci.* 70, 4229–4241. <https://doi.org/10.1007/s00018-013-1348-7>
- Wang, S., Zhu, H., Chen, C., 2000. Reactive oxygen species contribute to the induction of superoxide dismutase during heat shock in cultured rat neonatal cardiomyocytes. *Chin. Med. J.* 113, 606–609.
- Wilmink, G.J., Opalenik, S.R., Beckham, J.T., Abraham, A.A., Nanney, L.B., Mahadevan-Jansen, A., Davidson, J.M., Duco Jansen, E., 2009. Molecular Imaging-Assisted Optimization of Hsp70 Expression during Laser-Induced Thermal Preconditioning for Wound Repair Enhancement. *Journal of Investigative Dermatology* 129, 205–216. <https://doi.org/10.1038/jid.2008.175>
- Xia, Z., Dickens, M., Raingeaud, J., Davis, R.J., Greenberg, M.E., 1995. Opposing effects of ERK and JNK-p38 MAP kinases on apoptosis. *Science* 270, 1326–1331. <https://doi.org/10.1126/science.270.5240.1326>
- * Xia, Z., Li, H., Irwin, M.G., 2016. Myocardial ischaemia reperfusion injury: the challenge of translating ischaemic and anaesthetic protection from animal models to humans. *Br J Anaesth* 117, ii44–ii62. <https://doi.org/10.1093/bja/aew267>

- Xu, H., Aibiki, M., Nagoya, J., 2002. Neuroprotective effects of hyperthermic preconditioning on infarcted volume after middle cerebral artery occlusion in rats: role of adenosine receptors. *Crit. Care Med.* 30, 1126–1130. <https://doi.org/10.1097/00003246-200205000-00028>
- Yamashita, N., Hoshida, S., Nishida, M., Igarashi, J., Taniguchi, N., Tada, M., Kuzuya, T., Hori, M., 1997. Heat shock-induced manganese superoxide dismutase enhances the tolerance of cardiac myocytes to hypoxia-reoxygenation injury. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 29, 1805–1813. <https://doi.org/10.1006/jmcc.1997.0415>
- Yamashita, N., Hoshida Shiro, Otsu Kinya, Taniguchi Naoyuki, Kuzuya Tsunehiko, Hori Masatsugu, 2000. Involvement of Cytokines in the Mechanism of Whole-Body Hyperthermia-Induced Cardioprotection. *Circulation* 102, 452–457. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.102.4.452>
- Zeng, X., Han, I., Abd-El-Barr, M., Aljuboori, Z., Anderson, J.E., Chi, J.H., Zafonte, R.D., Teng, Y.D., 2016. The Effects of Thermal Preconditioning on Oncogenic and Intraspinal Cord Growth Features of Human Glioma Cells. *Cell Transplant* 25, 2099–2109. <https://doi.org/10.3727/096368916X691493>
- * Zhang, X., Tang, N., Hadden, T.J., Rishi, A.K., 2011. Akt, FoxO and regulation of apoptosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, PI3K-AKT-FoxO axis in Cancer and Aging 1813, 1978–1986. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2011.03.010>
- Zhou, J., Schmid, T., Frank, R., Brüne, B., 2004. PI3K/Akt Is Required for Heat Shock Proteins to Protect Hypoxia-inducible Factor 1 α from pVHL-independent Degradation. *J. Biol. Chem.* 279, 13506–13513. <https://doi.org/10.1074/jbc.M310164200>
- Zong, W.X., Lindsten, T., Ross, A.J., MacGregor, G.R., Thompson, C.B., 2001. BH3-only proteins that bind pro-survival Bcl-2 family members fail to induce apoptosis in the absence of Bax and Bak. *Genes Dev.* 15, 1481–1486. <https://doi.org/10.1101/gad.897601>
- Zou, J., Guo, Y., Guettouche, T., Smith, D.F., Voellmy, R., 1998. Repression of Heat Shock Transcription Factor HSF1 Activation by HSP90 (HSP90 Complex) that Forms a Stress-Sensitive Complex with HSF1. *Cell* 94, 471–480. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81588-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81588-3)